

VU Research Portal

New strategies for the accurate identification and detection of plant pathogens

van Doorn, R.

2012

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

van Doorn, R. (2012). *New strategies for the accurate identification and detection of plant pathogens*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Samenvatting

Het onderzoek in dit proefschrift had tot doel om nieuwe strategieën voor de kwalitatieve en kwantitatieve detectie van meerdere (pathogene) micro-organismen in één enkele test te ontwikkelen en toe te passen. Zulke testen kunnen uiteindelijk van grote toegevoegde waarde zijn om de ecologie en de epiderminologie van plant pathogenen te bestuderen. Met de wereldwijd toenemende vraag naar voedsel is namelijk de mogelijkheid om te aanwezigheid en/of hoeveelheid van een bepaald pathogeen in een gewas, een kas-recirculatiewater systeem of een grond te bepalen voordat er ziekte symptomen zichtbaar zijn, van groot belang om het preventieve gebruik van pesticiden te verminderen en om de teelt opbrengst te vermeerderen. Ook helpen zulke technologieën om duidelijke drempel waarden m.b.t. pathogeen dichtheid te bepalen en om noodzakelijke informatie te verschaffen waarop ziekte bestrijdings strategieën kunnen worden gebaseerd.

De testen in dit proefschrift zijn gebaseerd op circulariseerbare ligatie probes en maken het mogelijk om meerdere plant pathogenen in één enkele test te detecteren, zonder dat de detectie betrouwbaarheid van ieder individueel pathogeen wordt beïnvloed. Pathogenen kunnen van elkaar worden onderscheiden gebaseerd op slechts een enkele nucleotide verschil in de te detecteren DNA sequentie. Deze extreem hoge specificiteit maakt het mogelijk om pathogenen te onderscheiden van zeer verwante, niet schadelijke organismen. Alle ontwikkelde testen detecteren pathogenen over concentratie verhoudingen van meer dan $1:10^4$. In hoofdstuk 3 is een test ontwikkeld voor de kwalitatieve analyse van meerdere pathogenen in kas-recirculatie water systemen. De afwezigheid van achtergrond maakt deze test erg geschikt voor de detectie van quarantaine organismen. In hoofdstuk 4 is er een nanoliter-volume qPCR gebaseerde test ontwikkeld die de gelijktijdige detectie en kwantificatie van meer dan 10 verschillende pathogenen mogelijk maakt. In hoofdstuk 5 is de in de in het voorgaande hoofdstuk beschreven technologie toegepast voor de kwantificatie van organohalogeën reducerende bacteriën in vervuilde gronden. In hoofdstuk 6 is de kwantitatieve test verder ontwikkeld om te compenseren voor het verlies aan gevoeligheid ten gevolge van de nanoliter qPCR volumes. Ten slotte, is in hoofdstuk 7 een interne amplificatie controle (IAC) strategie ontwikkeld om zo qPCR remming te kunnen monitoren in grond monsters die worden geanalyseerd in een nanoliter-volume qPCR platform. De ontwikkelde IAC maakte meer betrouwbare correctie voor qPCR remming mogelijk, iets dat de betrouwbaarheid van de microbiologische kwantificatie in grond monsters ten goede komt.

De in dit proefschrift beschreven testen kunnen dienen als model system voor de routine detectie en identificatie van micro-organismen in diverse biologische systemen waar multiplex detectie gewenst is. Bovendien zal de juiste correctie voor test remming als gevolg van een variëteit aan monster-gerelateerde factoren nog meer toevoegen aan de betrouwbaarheid van de kwantificatie. De ontwikkelde testen die hier zijn gepresenteerd, zijn een waardevolle toevoeging aan de toolbox voor de effectieve detectie van plant pathogenen en andere micro-organismen en hebben een potentiële toepasbaarheid buiten de agrarische sector.